

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**

**ZNAČAJKE I ULOGA B I T REGULACIJSKIH STANICA**  
**CHARACTERISTICS AND FUNCTIONS OF B AND T REGULATORY CELLS**  
**SEMINARSKI RAD**

Marijana Petrić

Preddiplomski studij biologije

(Undergraduate study of Biology)

Mentor: prof.dr.sc Nada Oršolić

Zagreb, 2019.

# Sadržaj

<u>1. UVOD</u> .....	2
<u>2.1 Uloga</u> .....	3
<u>2.2 Razvoj regulacijskih stanica T</u> .....	3
<u>2.3 Fenotipi i regulacija nastanka regulacijskih T-stanica</u> .....	5
<u>2.4 Inhibitorni receptori CTLA-4 i PD-1</u> .....	6
<u>2.5 Molekularni mehanizmi djelovanja Treg-stanica</u> .....	7
<u>3. ULOGA T<sub>REG</sub> STANICA U IMUNOTERAPIJI</u> .....	8
<u>4. REGULACIJSKE B-STANICE</u> .....	9
<u>4.1 Mehanizam regulacije</u> .....	9
<u>5. ULOGA REGULACIJSKIH B-STANICA U TRANSPLANTACIJI</u> .....	11
<u>6. LITERATURA</u> .....	14
<u>7. SAŽETAK</u> .....	15
<u>8. SUMMARY</u> .....	15

## 1. UVOD

Uloga imunosnog sustava sisavaca je zaštita od širokog spektra patogenih mikroorganizama koji potencijalno mogu naštetiti tjelesnim stanicama. Imunosna reakcija započinje prepoznavanjem antigena. Antigen je molekula, najčešće protein koja potiče stvaranje protutijela. Vezivanjem antigena za specifično protutijelo dolazi do neutralizacije patogena pokretanjem imunosnog odgovora. U isto vrijeme imunosni sustav osigurava da spomenuti imunosni odgovor ne naštetiti stanicama domaćina. Tjelesne stanice domaćina imaju specifične antigene na površini koje je imunosni sustav naučio raspoznavati kao vlastite. Kada ne dođe do prepoznavanja antigena tjelesnih stanica domaćina kao vlastitih stanica, dolazi do autoimunosne reakcije.

Stanice T i B imaju značajnu ulogu u imunosnim i autoimunosnim reakcijama. Prisutne su u iznimno širokom spektru oblika za prepoznavanje pojedinih antigena, što ih čini visoko specifičnima, vrlo učinkovitima te imaju dugotrajnu imunosnu memoriju. U slučajevima neispravnog prepoznavanja antigena javlja se preosjetljivost na određeni antigen (alergije); pretjerana reakcija limfocita B i T zbog svoje visoke učinkovitosti može uzrokovati ozbiljna oštećenja stanica domaćina (Sakaguchi i sur. 2008). Bolje poznavanje regulacijskih mehanizama imunosnih reakcija je ključno za otkrivanje kako na pravilan način tretirati slabe imunosne reakcije na tumore, spriječiti odbacivanje presađka (transplantanata) i inhibirati autoimunosne reakcije (Christoffersson i von Herrath, 2019).

## 2. REGULACIJSKE T-STANICE

### 2.1 Uloga

Imunosni sustav je složen sustav reakcija gdje lako može doći do pogrešaka. Pokušavajući održavati ravnotežu između sprječavanja autoimunskih reakcija i imunosne kompatibilnosti, neuspješnost pravilnog raspoznavanja vlastitih stanica od patogenih je moguća.

Regulacijske T-stanice, reguliraju aktivnost ostalih limfocita i smanjuju vjerojatnost oštećenja, održavaju imunotoleranciju. To su regulativne stanice koje sudjeluju u imunosupresiji (Janeway, 2016). Nedostatak, neučinkovitost regulacijskih T-stanica uzrokuje autoimune i upalne bolesti kod ljudi i životinja (Sakaguchi i sur. 2008). Dokaz spomenutog je sindrom X-vezane imunodisregulacije, poliendokrinopatije i enteropatije (IPEX sindrom) (engl. *immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked*, IPEX) gdje zbog disfunkcije glavnog transkripcijskog čimbenika FOXP3 (engl. *forkhead box protein 3*) koji regulira regulacijske stanice T dolazi do ispoljavanja autoimunih bolesti (Wildin i sur. 2001) (Slika 1.).

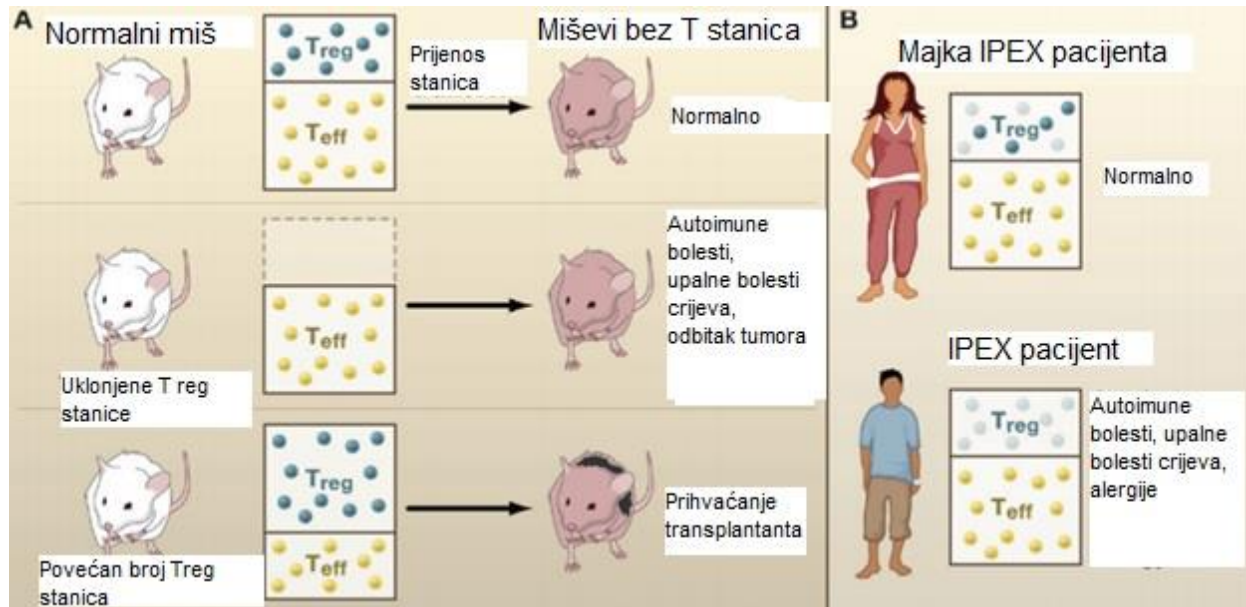
### 2.2 Razvoj regulacijskih stanica T

Sve stanice T nastaju u timusu iz matičnih stanica koštane srži. Tijekom sazrijevanja dolazi do selekcije. Samo stanice T s TCR-ovima (engl. *T cell antigen receptors*) koji se pravilno vežu za MHC (engl. *major histocompatibility complex*) preživljavaju. Selekcija nije uvijek uspješna. Replikacija, aktivacija neispravnih, samoreaktivnih stanica T je regulirana upravo regulacijskim T, supresijskim stanicama (Sakaguchi, i sur. 2000). Treg-stanice ne ubijaju već samo deaktiviraju samoreaktivne stanice T (Curiel i sur. 2007).

Regulacijske T-stanice nastale iz timusa su podskup CD4<sup>+</sup> (eng. *cluster of differentiation*) stanica T, one potječu od CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> timocita kao i sve ostale stanice T (Janeway, 2016). CD4<sup>+</sup> stanice T koje imaju visoku ekspresiju CD25<sup>+</sup> imaju supresijsku funkciju, te takve stanice zovemo CD25<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Treg- stanice.

Kako bi dokazali imunosupresijsku aktivnost Treg-stanica provedeno je istraživanje na normalnim miševima i golim miševima bez timusa. Pripremljena suspenzija iz normalnih miševa u kojoj imamo nedostatak CD25<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Treg- stanica unijeta je u gole miševe bez timusa. Ti miševi su spontano razvili upalne bolesti crijeva i autoimune bolesti. Miševi kod kojih je ravnoteža Treg-

stanica i efektorskih stanica bio u korist Treg, dolazi do prihvatanja presadka i uništenja stanica tumora (Sakaguchi i sur. 2008).



**Slika 1.** Slika preuzeta i prilagođena iz Sakaguchi i sur. 2008.

Kratice: Treg – regulacijske T-stanice, Teff – efektorske T-stanice, IPEX – engl.

*immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome*

Pripremljena suspenzija normalnih miševa s nedostatkom stanica Treg prenesena je u genetički jednake miševe koji nemaju  $CD25^{+} CD4^{+}$  Treg-stanice, odnosno koji su imunokomprimirani. Primatelj spontano razvija upalne crijevne bolesti, autoimune bolesti i dolazi do odbacivanja tumorskih stanica. U suprotnom slučaju gdje imamo suspenziju u kojoj omjer Treg-stanica nadmašuje efektorske stanice dolazi do prihvatanja genetički inkompatibilnih presadaka.

(A) Muško djeteta sa IPEX sindromom i heterozigotna majka sa neispravnim FOXP3 genom. Poluprozirne plave kuglice predstavljaju nedostatak ili neispravnost Treg-stanica.

### 2.3 Fenotipi i regulacija nastanka regulacijskih T-stanica

Postoje dvije fenotipski iste populacije stanica Treg. Regulacijske T-stanice proizašle iz timusa koje prepoznaju vlastite antigene nazivamo prirodnim ili urođenim regulacijskim stanicama. One imaju visoki afinitet za međureakcije s MHC kompleksom te izražavaju visoke koncentracije CD4+, CD25+ i FOXP3. Regulacijske stanice nastale u perifernim imunskim tkivima nazivamo inducibilnim regulacijskim T-stanicama (Slika 2.) Njihov razvoj je potaknut iz naivnih CD4+ stanica i one mogu biti specifične za vlastite i strane antigene. Postoji više tipova inducibilnih regulacijskih T-stanica. Th3 (eng. *t helper*) stanice koje izražavanjem transformirajućeg čimbenika rasta  $\beta$  (engl. *transforming growth factor*  $\beta$ , TGF- $\beta$ ) inhibiraju proliferaciju i stvaranje citokina od strane Th1 stanica. Tr1 stanice koje izražavaju IL-10 (eng. *interleukin*), TGF- $\beta$ , IL-5 i IFN- $\gamma$  te u nekim slučajevima IL-2 i IL-4. Ne zrele dendritičke stanice imaju ulogu u održavanju imunotolerancije potičući stvaranje Tr1 stanica (Linda Cassis i sur. 2005). U miševa sklonim autoimunskim bolestima primijećen je nedostatak NKT-stanica (eng. *natural killer cells*), te se zaključilo da su NKT-stanice još jedan podskup T induciranih regulacijskih stanica (Gombert i sur. 1996).

FOXP3 transkripcijski čimbenik (engl. *forkhead box protein 3*) je glavni regulacijski i razvojni čimbenik Treg-stanica. TGF- $\beta$  (engl. *Tumor inducing factor*  $\beta$ ) je bitan jer potiče izražaj FOXP3 (Abbas i sur. 2018). Važnost FOXP3 dokazana je pomoću miševa s mutiranim genom za FOXP3 čimbenik, takozvani „Scurfy“ miševi. To je letalna mutacija koja dovodi do hiperaktivacije CD4+ stanica i stvaranja upalnih citokina (Wildin i sur. 2001). „Scurfy“ miševi su ekvivalent IPEX bolesti u ljudi.

Citokini su bitni za regulaciju djelovanja i stvaranje regulacijskih T-stanica. Citokin IL-1 potiče diferencijaciju stanica T u regulacijske T-stanice. Aktivacijom transkripcijskog čimbenika STAT5 (engl. *signal transducer and activator of transcription 5*) koji povećava izražaj FOXP3 održava se regulacijska podskupina T-stanica. Miševi sa inaktiviranim IL-2 razvijaju autoimunosne bolesti jer im potpuno nedostaju CD25+ i FOXP3 regulacijske stanice. IL-2 (interleukin-2) je također bitan za regulaciju i razvoj FOXP3 Treg- stanica (Abbas i sur. 2018). Neregulacijske T-stanice su glavni proizvođač IL-2. Treg imaju na površini stanica IL-2 receptore.

Tako se održavaju i aktiviraju Treg-stanice dok se istovremeno šalje signal za supresiju tih istih neregulacijskih T-stanica (Sakaguchi i sur. 2000)

## **2.4 Inhibitorni receptori CTLA-4 i PD-1**

Jedan od načina regulacije T staničnih odgovora je pomoću T inhibitornih receptora. Dva najbolje proučena inhibitorna receptora su CTLA-4 (eng. *cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4*) i PD-1 (eng. *programmed cell death protein 1*).

CTLA-4 pripada porodici CD28 receptora. Kao i CD28 veže se za molekule B7. CTL4 je slabo izražen sve do aktivacije antigenom, nakon aktivacije prekida se trajna aktivacija reaktivnih T-stanica.

CTLA-4 je izražen na regulacijskim T-stanicama te sudjeluje u njihovom supresivskom djelovanju inhibirajući aktivaciju naivnih stanica T. Inhibicijsko djelovanje ostvaruje na dva načina. Prvi način je blokiranjem signala. CTLA-4 se veže za B7 molekulu koja uklanja fosfate iz signalnih molekula i tako obustavlja reakciju. Također, vezanjem na B7 molekulu smanjuje njenu razinu na stanicama za predočavanje antigena (engl. *antigen presenting cells*, APC) koji vežu CD28 te to dovodi do inhibicije T-stanica. Spoznajom ovih kontrolnih točaka CTLA-4 predložen je mehanizam za pojačavanje imunskog odgovora na tumore. Aktivacijom limfocita može se promicati blokada kontrolne točke (engl. *check point blockade*). Korištenjem Anti-CTLA-4 protutijela pacijenti su očekivano razvili simptome autoimunih bolesti i upale različitih organa.

Drugi inhibitorni receptor iz porodice CD28 je PD-1. On prepoznaje dva liganda PD-L1, koji je izražen na APC stanicama i mnogim drugim tkivnim stanicama i PD-L2 izražen uglavnom na APC stanicama. Vezanjem PD-1 na jedan od tih liganda dovodi do inaktivacije T-stanica što je dokazano i pokusima na miševima koji su imali inaktiviran gen za PD-1. Miševi su razvili autoimunosne poremećaje koji su ipak bili blaži od autoimunosnih reakcija izazvanih blokiranjem CTL-4 inhibitornog receptora (Abbas i sur. 2018).

## 2.5 Molekularni mehanizmi djelovanja Treg stanica

Postoji više mehanizama kojim Treg stanice kontroliraju djelovanje ostalih stanica T. Na primjer natječu se sa antigen predodnim stanicama. Ekspresijom antigena koji kompetira antigenu na antigen predodnim stanicama i dozvoljava im da izbrišu antigen, odnosno spriječe stimulaciju naivnih stanica T (Murphy i sur. 2016).

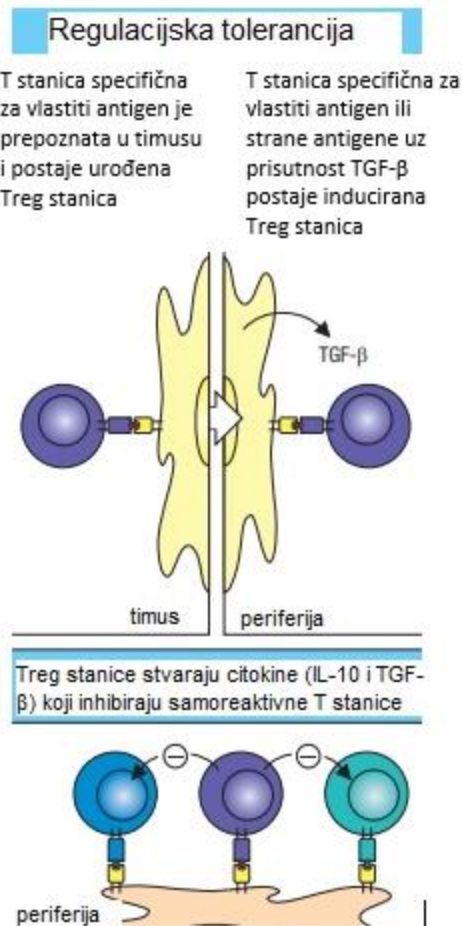
Proizvodnjom imunosupresivnih citokina Treg-stanice održavaju imunotoleranciju.

**TGF- $\beta$**  citokin osim Treg-stanica proizvode i makrofagi i druge vrste stanica. TGF- $\beta$  inhibira proliferaciju i djelovanje stanica T i djeluje na aktivaciju makrofaga a djeluje i na diferencijaciju stanica T poticanjem izražaja FOXP3. Zanimljivo je što TGF- $\beta$  može ovisno o kontekstu nastanka imati suprotne učinke. Na primjer, u kombinaciji sa određenim citokinima potiče razvoj Th17CD4 + stanica (Abbas i sur. 2018).

**Interleukin-10** inhibira aktivirane dendritičke stanice i makrofage. Koči proizvodnju IL-12 koji je bitan za izlučivanje IFN- $\gamma$  (interferon gamma) koji aktivira urođene i adaptivne imunoreakcije pri doticaju s mikroorganizmima. On se ujedno i proizvodi na dendritičkim i makrofagnim stanicama te zato djeluje kao regulator negativnom povratnom spregom. IL-10 također suprimira aktivaciju stanica T, indirektno inhibira diferencijaciju i regulaciju Th1 i Th17 i prekida imunoreakcije kočenjem izražavanja kostimulatora i molekula MHC II na dendritičkim stanicama i makrofagima (Murphy i sur. 2016). Upalne citokine koje proizvedu antigen predodne stanice inhibira IL-10, citokin s ciljem utišavanja odgovora efektorskih stanica T (Abbas i sur. 2018).

Još jedan od mehanizama je preko regulacije ekspresije B granzima koji inhibiraju efektorske stanice (David i sur. 2005).





**Slika 2.** Nastanak urođenih (nTreg) i induciranih (iTreg) stanica. Preuzeto i prilagođeno iz Murphy i sur. 2016.

Kratice: TGF- $\beta$  – transformirajućeg čimbenika rasta  $\beta$  (engl. *Tumor growth factor*); IL-10 – interleukin 10; Treg – T regulacijske stanice; nTreg – urođene regulatorne T-stanice (engl. *natural Treg cells*); iTreg – potaknute ili inducirane regulatorne T-stanice (engl. *induced Treg cells*)

### **3. ULOGA T<sub>REG</sub> STANICA U IMUNOTERAPIJI**

Unatoč velikom broju autoimunskih bolesti, glavni mehanizam njihovog nastanka je isti; prekid imunotolerancije i pokretanje imunosne reakcije na vlastite antigene te oštećenje organa. Danas se koriste steroidni imunosupresivni lijekovi koji samo smanjuju simptome, a uz to imaju mnogo negativnih nuspojava. Proučavanjem Treg-stanica sve smo bliže pronalasku učinkovitijih lijekova za imunosupresiju i kroničnih upala (Chen, 2011).

Dosadašnja istraživanja na miševima bila su provedena tako da su Treg-stanice unesene u još zdrave miševe koji bi kasnije oboljeli od određene autoimunosne bolesti. Problem je kako iskoristiti Treg stanice kad je već došlo do oštećenja uzrokovanih autoimunskim bolestima. Neka istraživanja su pokazale da unos Treg-stanica, kada je već upala pokrenuta, može dovesti do napredovanja upalne reakcije (Oldenhove i sur. 2009). Pitanje je kako možemo manipulirati Treg-stanicama, njihovim omjerima, u svrhu liječenja autoimunskih bolesti i odbacivanja presadka (transplantanata). Preventivna cjepiva sa antigen specifičnim Treg stanicama mogu biti razvijena.

Teško je razlikovati Treg-stanice od efektorskih stanica, zato je bitno pronaći specifični molekularni biljeg pomoću kojeg bismo mogli sa sigurnošću razlikovati efektorske stanice od regulatornih. Daljnjim proučavanjem razvitka i mehanizama Treg stanica omogućit će razvitak novih pristupa u sprječavanju bolesti povezanih sa autoimunskim reakcijama (Sakaguchi i sur 2008).

### **4. REGULACIJSKE B-STANCE**

B-stanice su poznate kao antigen predočne stanice, stanice koje stvaraju protutijela te stanice koje proizvode protuupalne citokine. Nedavnim istraživanjima došlo je do otkrića da stanice B imaju važnu ulogu kao regulacijske stanice imunosnog sustava. Analogno Treg-stanicama, nazvane su Breg-stanice. Slično Treg-stanicama u posljednje vrijeme su zanimljive radi njihove uloge u autoimunim bolestima, upalnim bolestima, tumorima i imunosupresiji kod transplantacije (Wortel i Heidt, 2017). Regulacijske B-stanice počele su se istraživati već 70tih godina, gdje su ispitivali učinak nedostatka stanica B kod zamoraca. Diferencijacija i aktivacija Breg-stanica je inducirana upalnim reakcijama (Katz i sur. 1974). Kod miševa zaraženih EAE (autoimuni encefalitis, odgovarajuća bolest multiploj sklerozi u čovjeka) Breg-stanice kontroliraju imunosne upalne

procesu tako da inhibiraju dendritičke stanice. Autori su pokazali kako miševi čije stanice B kontroliraju diferencijaciju plazma stanica razviju teži oblik bolesti od kontrolnih miševa (Matsumoto i sur. 2014).

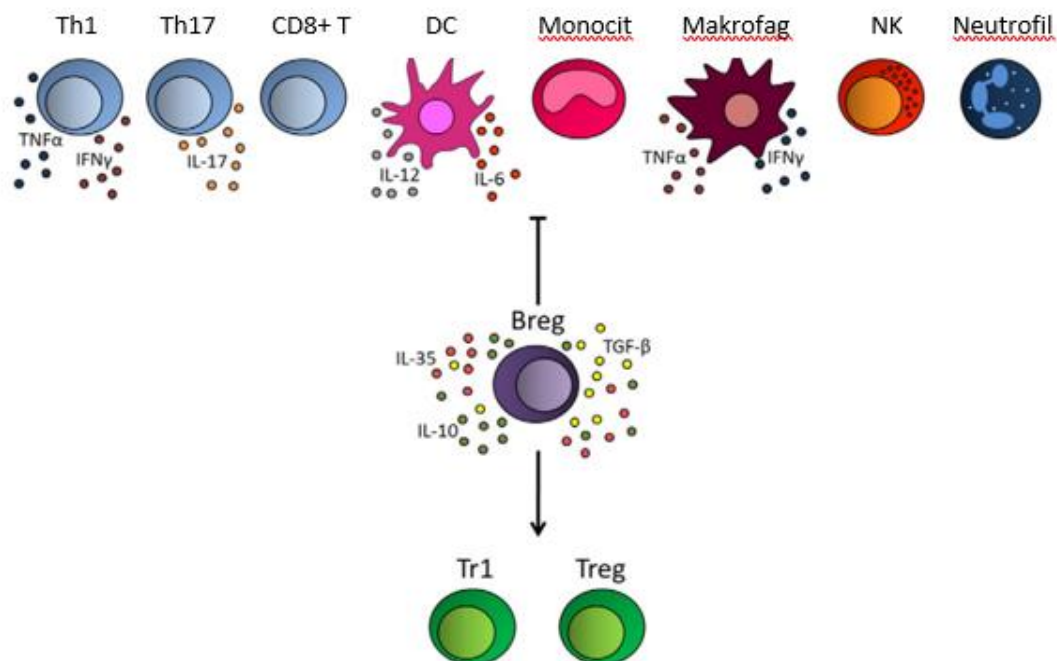
#### 4.1 Mehanizam regulacije

Najbolje istražen mehanizam je regulacija preko IL-10. IL-10 djeluje na inhibiciju diferencijacije Th1 i Th17 efektorskih stanica kao i na indukciju Treg-stanica koje također stvaraju IL-10. Kod kimeričnih miševa s nedostatkom IL-10 Breg-stanica dolazi do pojave artritisa, povećanja u broju Th1 i Th17 efektorskih stanica kao i smanjenja IL-10 Treg-stanica (Carter i sur. 2012.) Osim IL-10, Breg-stanice također djeluju preko dendritičkih stanica (Matushita i sur. 2010). Preko interleukina koje stvaraju dendritičke stanice inhibiraju se samoreaktivne stanice u EAE zaraženim miševima (Matsumoto i sur. 2014). Osim IL-10 drugi citokini su također povezani sa Breg funkcijama.

Dokazano je da TGF- $\beta$  stvoren od strane Breg-stanica pospješuje FOXP3 ekspresiju Treg-stanica (Kessel i sur. 2012).

IL-35 citokin inhibira diferencijaciju efektorskih stanica, dok su dva istraživanja dokazala da granzim B nastao od Breg-stanica smanjuje proliferaciju T limfocita (Griffin 2012; Wang i sur. 2014; Chesnau i sur. 2015). Breg-stanice pomoću spomenutih citokina inhibiraju efektorske stanice, te aktiviraju Treg-stanice i NKT (engl. *Natural killer T*) stanice sa supresivnom funkcijom (Slika 3.).

Breg-stanice sa povećanim izražajem FasL mogu induciratu apoptozu CD4<sup>+</sup> stanica. Međureakcije koje uključuju CD80, CD86 i MHC II su pokazani iznimno važnima funkciji Breg-stanica. Breg-stanice povećavaju koncentracije PD-L1 (engl. *programmed death ligand 1*) koja inhibira aktivaciju T stanica i održava Treg-stanice (Wortel i Heidt 2017).



**Slika 3.** Breg-stanice inhibiraju stanice koje izazivaju upale kao što su pomoćničke stanice, dendritičke stanice i makrofagi dok potiču diferencijaciju protuupalnih stanica kao što su Treg i Tr1-stanice preko citokina. Preuzeto i prilagođeno iz Wortel i Heidt 2017.

Kratice: Treg - T regulacijske stanice; Tr1 – tip 1 regulacijskih stanica; Breg – B regulacijske stanice; NK –stanice ubojice; DC – dendritička stanica; Th – T pomoćne stanice

## 5. ULOGA REGULACIJSKIH B-STANICA U TRANSPLANTACIJI

Transplantacija organa je terapija koja se primjenjuje kod krajnjeg stadija otkazivanja organa. Breg-stanice osim u sprječavanju upalnih i autoimunskih reakcija imaju značajnu ulogu u prihvatanju transplantanata. Glavni mehanizam je jednak opisanom u prijašnjem poglavlju. Breg-stanice potiču proliferaciju Treg-stanica ponajprije izlučivanjem citokina IL-10 te tako održavaju imunotoleranciju.

Istraživanje Breg-stanica na čovjeku je prilično teško, pošto se većina Breg-stanica u miševima nalazi u slezeni, kod čovjeka znamo samo par tipova Breg-stanica u perifernim tkivima. U istraživanju sa miševima gdje je korišten model sa transplantiranim bubregom, uočen je porast koncentracija Breg-stanica u transplantantu i u krvi (Le texier i sur. 2011). Na istom modelu, ali kasnijem istraživanju otkriven je podskup Breg-stanica koje izražavaju više IL-10 i TGF- $\beta$ , a manje TNF $\alpha$ . Te Breg-stanice su bile aktivirane prepoznavanjem donor specifičnih epitopa. Slezenske stanice B migrirale su do transplantanta gdje su povećale broj Treg-stanica (Durand i sur. 2015).

Podskupina T2 B-stanica ima regulacijsku aktivnost kod kožnih presađaka; miševi uspješno prihvataju presađak nakon unosa splenocita donora i anti-CD40L antitijela. B stanice iz tolerantnih miševa su prenesene na singenične miševe koji su primili kožni transplantant. Miševi su počeli izražavati IL-10 i TGF- $\beta$  te je prihvatanje presađka povećano. Koncentracija aloantitijela je smanjena, te prijenos Breg-stanica i Treg-stanica zajedno doveo je do puno dužeg prihvatanja presađka nego kod zasebnog prijenosa Breg ili Treg-stanica. Možemo zaključiti da je za imunotoleranciju bitna suradnja između B i T regulacijskih stanica (Moreau i sur. 2015).

Rezultati istraživanja na modelima miševa su uspješna, prenijeti to u ljudski model je teži zadatak. Učinkovitost Breg-stanica još je uvijek upitna i nije sigurno na koji način je moguće održavati optimalan udio stanica B i Breg-stanica kod pacijenata koji su primili presađak.

## 6. LITERATURA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S., 2018. Stanična i molekularna imunologija. 8. izdanje. Medicinska naklada, Zagreb, pp. 317-327
- Carter NA, Rosser EC, Mauri C. Interleukin-10 produced by B cells is crucial for the suppression of Th17/Th1 responses, induction of T regulatory type 1 cells and reduction of collagen-induced arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(1). doi:10.1186/ar3736
- Chen W. Tregs in immunotherapy: opportunities and challenges. *Immunotherapy.* 2011;3(8):911-914. doi:10.2217/imt.11.79
- Chesneau M, Pallier A, Braza F, et al. Unique B cell differentiation profile in tolerant kidney transplant patients. *Am J Transplant.* 2014;14(1):144-155. doi:10.1111/ajt.12508
- Christoffersson G, von Herrath M. Regulatory Immune Mechanisms beyond Regulatory T Cells. *Trends Immunol.* 2019;40(6):482-491. doi:10.1016/j.it.2019.04.005
- Curiel TJ. Review series personal perspective Tregs and rethinking cancer immunotherapy. *J Clin Invest.* 2007;117(5):1167-1174. doi:10.1172/JCI31202.and
- Durand J, Huchet V, Merieau E, et al. Regulatory B Cells with a Partial Defect in CD40 Signaling and Overexpressing Granzyme B Transfer Allograft Tolerance in Rodents. *J Immunol.* 2015;195(10):5035-5044. doi:10.4049/jimmunol.1500429
- Gombert JM, Herbelin A, Tancrède-Bohin E, Dy M, Carnaud C, Bach JF. Early quantitative and functional deficiency of NK1 + -like thymocytes in the NOD mouse. *Eur J Immunol.* 1996;26(12):2989-2998. doi:10.1002/eji.1830261226
- Griffin D, Rothstein T. INTRODUCTION We identified the phenotype of human B1 cells as CD20. *Mol Med.* 2012;18(6):1. doi:10.2119/molmed.2012.00203
- Le Texier L, Thebault P, Lavault A, et al. Long-term allograft tolerance is characterized by the accumulation of B cells exhibiting an inhibited profile. *Am J Transplant.* 2011;11(3):429-438. doi:10.1111/j.1600-6143.2010.03336.x

Matsumoto M, Baba A, Yokota T, et al. Interleukin-10-producing plasmablasts exert regulatory function in autoimmune inflammation. *Immunity*. 2014;41(6):1040-1051. doi:10.1016/j.immuni.2014.10.016

Matsushita T, Horikawa M, Iwata Y, Tedder TF. Regulatory B Cells (B10 Cells) and Regulatory T Cells Have Independent Roles in Controlling Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Initiation and Late-Phase Immunopathogenesis. *J Immunol*. 2010;185(4):2240-2252. doi:10.4049/jimmunol.1001307

Moreau A, Blair PA, Chai J-G, et al. Transitional-2 B cells acquire regulatory function during tolerance induction and contribute to allograft survival. *Eur J Immunol*. 2015;45(3):843-853. doi:10.1002/eji.201445082

Murphy K, Weaver C., 2016. Janeway's immunobiology 9th ed. Garland Science, Taylor & Francis Group LLC, New York, pp. 651-652, 379-380.

Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T Cells and Immune Tolerance. *Cell*, 133 (5), 775-787. *Cell*. 2008;133(5):775-787. doi:10.1016/j.cell.2008.05.009

Sakaguchi S. Regulatory T cells: Key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell*. 2000;101(5):455-458. doi:10.1016/S0092-8674(00)80856-9

Wang RX, Yu CR, Dambuzza IM, et al. Interleukin-35 induces regulatory B cells that suppress autoimmune disease. *Nat Med*. 2014;20(6):633-641. doi:10.1038/nm.3554

Wildin RS, Ramsdell F, Faravelli F, et al. The IPEX is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet*. 2001;27(january):20-21.

Wortel CM, Heidt S. Regulatory B cells: Phenotype, function and role in transplantation. *Transpl Immunol*. 2017;41:1-9. doi:10.1016/j.trim.2017.02.004

## **7. SAŽETAK**

Imunosni odgovor potaknut izlaganjem nekom antigenu jednako je bitan kao i supresija imunosnog odgovora. U imunosnoj reakciji kao i supresiji sudjeluju brojne stanice koje surađuju i komuniciraju kroz različite molekularne mehanizme. U radu su sažeto opisane značajke, uloga i mehanizmi regulacijskih stanica. Regulacijske B- i T- stanice su bitne podskupine stanica koje održavaju i reguliraju imunotoleranciju. Nedostatak regulacijskih stanica ili bilo kojeg dijela puta mehanizma regulacije može dovesti do upalnih procesa i autoimunih bolesti. Temeljem toga, u zadnjih desetak godina ovo područje istraživanja je popularno u imunologiji. Bolje poznavanje regulacijskih mehanizama nastanka i djelovanja regulacijskih stanica omogućiti će precizniju mogućnost uporabe regulacijskih stanica u liječenju autoimunskih bolesti, tumora te odbacivanja presađka.

## **8. SUMMARY**

The immunological response elicited by an antigen is equally important as its suppression. In an immunological reaction and suppression a lot of cells collaborate and communicate through different molecular mechanisms. In this paper, functions, characteristics and mechanisms of regulatory cells are briefly explained. B and T regulatory cells are an important subset of T and B cells that regulate and maintain immunotolerance. A deficit of regulatory cells or any part of the regulatory mechanism can induce inflammation and autoimmune diseases. In the last ten years they are a popular subject of research in immunology. With a better understanding of regulatory cells, their development and function mechanisms, we can use them for curing autoimmune diseases, tumors and transplant rejection.